

不同浓度锌的含氟矿化液对人恒前磨牙釉质脱矿影响的体外研究

李子夏 朱 勇 左艳萍 周 芳

摘 要 **目的** 研究含不同浓度微量元素锌(Zn)的含氟矿化液对离体恒前磨牙釉质脱矿的影响。**方法** 采集和制备的牙釉质标本随机分为7组,将7组标本分别置于对照组(去离子水),不同浓度Zn(其中Zn的含量分别为0、10、50、100、150、200mg/L)的氟矿化液(含氟均为100mg/L)预处理8h,取出标本浸泡于酸蚀凝胶中,随后测定脱矿后8个时间点凝胶中的钙溶出量。**结果** 含有不同浓度Zn的矿化液均有抑制牙釉质脱矿的能力($P=0.000$),与对照组相比差异有统计学意义。同时含有Zn和F的比只含F的抑制脱矿能力增强,而且当Zn的含量为100mg/L时候,抑制脱矿的能力最强。**结论** Zn和F共同作用能显著提高抑制釉质脱矿作用,且其抑制釉质脱矿作用与Zn浓度有相关性。

关键词 锌 氟矿化液 牙釉质 脱矿 钙溶出量

中图分类号 R78

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.026

Effect of Different Concentrations of Zinc on Demineralization of Human Premolar Enamel in vitro. Li Zixia, Zhu Yong, Zuo Yanping, et al. Department of Stomatology, Xi'an Medical University, Shaanxi 710021, China

Abstract Objective To explore the zinc on demineralization of human premolar enamel in vitro with different concentrations of zinc containing fluorine mineralization fluid. **Methods** The human premolar enamel specimens were randomly divided into 7 groups: control group (distilled water), different concentrations of strontium containing fluorine mineralization fluid group [Zn^{2+} level (mg/L) of 0, 10, 50, 100, 150, 200]. After pre-treatment for 8h with the mentioned solutions respectively, the specimens were demineralized using acid gel at regular time intervals. The calcium contents released into the acid gel at regular time intervals were determined. **Results** Pre-treatment with zinc had significant influence on the contents of calcium released into the acid gel, compared with the control group. The total contents of the released calcium in the control group were significantly higher than those in the zinc group. The effect of demineralized enamel specimens was strongest when the value of Zn^{2+} at 100 mg/L. **Conclusion** The mineralization fluid solutions containing zinc and fluoride can enhance demineralization. The degree of demineralization may be related to Zn concentration.

Key words Zinc; Fluorine mineralization fluid; Dental enamel; Demineralization; Calcium released

龋病是口腔主要的常见病,也是人类最常见的疾病之一,其特点是发生率高、分布广。世界卫生组织已将其与肿瘤和心血管疾病并列为人类三大重点防治疾病^[1-3]。早期龋的发生是牙釉质脱矿与再矿化交替进行的动态过程,采用合适的预防和治疗方法,使因龋脱矿向再矿化过程转变,是治疗早期龋的关键。氟化物已被证实是最为有效的防龋物质,其抗龋作用主要表现在对牙齿、唾液界面上发生的脱矿和再矿化作用的影响。近年来,随着城市居民患龋率的升高,微量元素的防龋作用逐渐受到研究者的关注。很多体外实验结果表明,含有微量元素的矿化液与只含氟的矿化液相比,可以更加有效得促进釉质早期龋

再矿化^[4]。王黎芳等^[1]就对不同微量元素的含氟制剂进行对比研究,其研究表明,微量元素Sn、Mo、La、Sr、Zn等含氟制剂比单纯的氟制剂相比,抑制釉质脱矿作用增强。锌(Zn)作为人体必需的微量元素之一,和氟一样具有抑制牙釉质脱矿的能力。研究表明,锌和氟联合使用抑制釉质脱矿的效果优于单独使用氟^[4-6]。但关于锌对人牙釉质脱矿及再矿化的作用机制,以及不同浓度锌对釉质脱矿的影响未见报道。本研究以不同浓度锌的含氟矿化液为处理液,借助钙溶出量指标,研究锌对离体恒前磨牙釉质脱矿的影响,为寻求低毒高效的防龋制剂提供实验理论基础。

材料与方法

1. 釉质标本的选择和制备:按照刘振华等^[7]方法制备釉质标本,选择因正畸拔除的前磨牙,体视显微镜($\times 10$)下挑选

无裂痕、缺陷、斑块、龋损或充填物的离体牙 84 颗。截根去髓,超声清洗,冠根分离,切取颊侧釉质,制备釉质块标本,用耐酸指甲油在颊面中 1/3 处形成 3mm × 4mm 实验开窗区。随机将 84 个釉质块分为 7 组,每组 12 颗(表 1)。将 7 组标本分别置于对照组(去离子水,不含 F 和 Zn 元素)、只含 F 组(矿化液中氟的含量为 100mg/L,不含 Zn 离子)和含不同浓度 Zn 组(Zn 的浓度分别为 10、50、100、150、200mg/L,矿化液中氟的含量均为 100mg/L,由氟化钠和 ZnCl₂ 配置而成)8h,温度控制在 37℃。取出,去离子水洗涤。

2. 人工釉质龋的形成:采用酸蚀凝胶法形成白垩色的人工釉质龋^[8]。将上述制备好的釉质标本完全浸泡于 8ml 脱矿胶中,37℃ 恒温箱孵育(pH4.1)。

3. 钙溶出量的检测:Ca²⁺ 含量的测定采用全自动生化分析仪进行。分别测定 1、3、6、12、24、48、72、120h 酸蚀凝胶中的釉质钙溶出量。

表 1 不同脱矿时间的钙溶出量 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, n = 12)

组别	Zn 浓度 (mg/L)	脱矿时间							
		1h	3h	6h	12h	24h	48h	72h	120h
对照组	0	0.58 ± 0.029	0.89 ± 0.051	1.05 ± 0.024	1.28 ± 0.031	1.53 ± 0.017	1.87 ± 0.047	3.71 ± 0.045	6.47 ± 0.035
1 组	只含 F	0.43 ± 0.027	0.75 ± 0.032	0.89 ± 0.025	1.19 ± 0.035	1.34 ± 0.019	1.59 ± 0.039	3.11 ± 0.041	5.68 ± 0.027
2 组	10	0.40 ± 0.038	0.61 ± 0.031	0.75 ± 0.036	1.08 ± 0.031	1.21 ± 0.027	1.48 ± 0.025	2.98 ± 0.045	5.21 ± 0.037
3 组	50	0.38 ± 0.042	0.58 ± 0.043	0.66 ± 0.051	1.01 ± 0.032	1.16 ± 0.037	1.36 ± 0.036	2.76 ± 0.038	5.02 ± 0.039
24 组	100	0.29 ± 0.041	0.42 ± 0.051	0.54 ± 0.042	0.94 ± 0.041	1.08 ± 0.049	1.27 ± 0.045	2.37 ± 0.035	4.77 ± 0.042
5 组	150	0.31 ± 0.037	0.51 ± 0.029	0.62 ± 0.038	0.98 ± 0.041	1.10 ± 0.037	1.32 ± 0.020	2.65 ± 0.033	4.91 ± 0.029
6 组	200	0.32 ± 0.046	0.50 ± 0.047	0.63 ± 0.029	0.97 ± 0.038	1.12 ± 0.041	1.33 ± 0.028	2.64 ± 0.046	4.92 ± 0.038

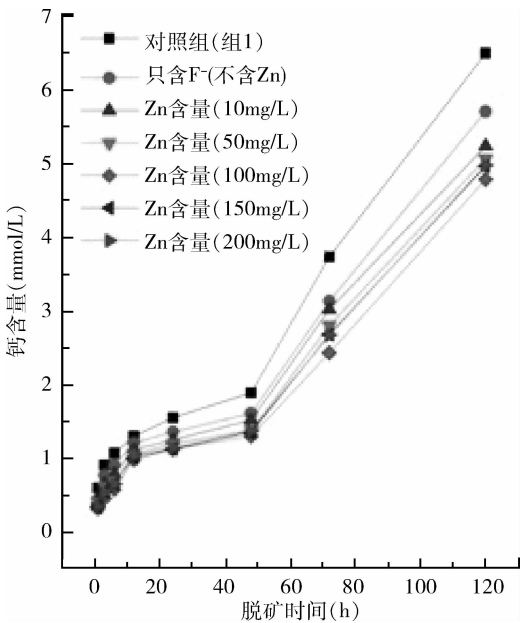


图 1 不同脱矿时间的钙溶出量

讨 论

1. 微量元素 Zn 的含氟矿化液有明显抑制釉质脱

4. 统计学方法:采用 SPSS 20.0 统计学软件,各组数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各时间点钙溶出量进行单因素方差分析(ANOVA)。不同含 Zn 的矿化液之间进行两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

表 1 与图 1 是测定不同浓度微量元素 Zn 的含氟矿化液不同脱矿时间的钙溶出量值。由表 1 结果可以看出,含有不同浓度 Zn 的矿化液均有抑制牙釉质脱矿的能力($P = 0.000$),与对照组相比差异有统计学意义。不同浓度 Zn 的矿化液之间进行两两相比,同时含有 Zn 和 F 的比只含 F(组 1)的抑制脱矿能力增强,而且当 Zn 的含量为 100mg/L 时候,抑制脱矿的能力最强。

矿,促进釉质再矿化作用:与对照组(去离子水,不含 F 和 Zn)相比,其余几组含 F 或 Zn 的矿化液作用于样本后,釉质钙的溶出量均有不同程度的降低,说明微量元素 F 和 Zn 均有抑制牙体脱矿作用。原因可能为 Zn 与羟基磷灰石反应,可从磷灰石结晶表面置换出钙离子(Ca²⁺),从而降低釉质在弱酸中的溶解度有关^[6]。而某些低溶解度的锌化合物粒子,如氧化锌(ZnO)粒子能封闭牙本质小管,从而抑制牙本质的脱矿^[9,10]。Takatsuka 等^[4]对牙本质脱矿的体外研究发现,氧化锌溶液和含锌牙膏能明显降低牙本质的脱矿程度,使用含锌牙膏的临床试验也证实牙釉质和牙本质的脱矿反应受到抑制。

2. Zn 和 F 协同作用的含氟矿化液比 Sr 抑制釉质脱矿、促进釉质再矿化的作用更强:实验发现与组 1(只含 F)相比,采用其他 5 组(同时含有 F 和 Zn)的矿化液,样本釉质钙的溶出量均有所降低。原因可能为当 F 和 Zn 同时存在时,二者的共同作用能显著提高脱矿组织的再矿化程度。对牙釉质再矿化的研究发现,再矿化反应减弱的机制与沉积的矿物质堵塞表

面孔隙,影响矿化液中矿物离子渗透进入组织深处有关^[11]。Zn 与 F 联合使用时,离子在病损组织的渗透深度明显大于单独用 F,再矿化的程度显著提高,其机制可能是 Zn^{2+} 能够减缓再矿化过程中病损表面晶体的生长和融合速度,保持尽可能多的表面孔隙开放,促进矿物离子进入病损深处^[6]。再矿化的牙釉质中表层 Zn 的含量远高于内部,也从某种程度上证实了 Zn 对再矿化反应的作用位点可能主要集中在病损表面^[12]。谷海晶等^[13]通过实验也提出,在含有 Ca、P、Zn 和 F 4 种离子的矿化液中,当 pH 值相同时,矿化晶体在牙釉质表面沉积的量及对牙釉质理化性能的影响取决于矿化液的中 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 、 Zn^{2+} 和 F^- 的含量及组合。含有 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 、 Zn^{2+} 和 F^- 的矿化液可以在牙釉质表面形成具有保护功能的载锌氟磷灰石晶体层,从而具有防治早期牙釉质龋的作用。

3. Zn 抑制釉质脱矿作用与其浓度有关:表 1 的实验数据表明,当 Zn 的浓度从 0 增加到 100mg/L 时,釉质钙的溶出量均有不同程度的降低,但是当 Zn 的浓度继续增加时候,釉质钙的溶出量反而有所增加。Zn 能有效降低甚至抑制釉质羟基磷灰石的溶解,在相同的酸性环境中,晶体表面含 Zn 量越高,其破坏程度越轻微,Ca 与 P 的丢失越少。在 Zn^{2+} 大量沉积的区域,釉质的再矿化程度也较高,表明 Zn 同时参与釉质的矿化过程;在已脱矿的釉面还能促进磷酸钙的再沉积,改善羟基磷灰石晶体的结构,且其引发再矿化的能力具有浓度和时间依赖性^[14]。

微量元素 Zn 的含 F 矿化液和其他营养素一样,对人体的健康效应与剂量的摄取有关,适宜剂量可维持机体生理作用的需要。使用微量元素含氟矿化物防龋,必须坚持安全第一、效果第二的原则。口腔局部使用的 Zn 的含 F 矿化液浓度越低,其引起的不良反应的可能性就越小。因此笔者建议 Zn^{2+} 的浓度 100mg/L 附近时,抑制釉质脱矿作用最好。

参考文献

- 1 王黎芳,孔莉,郑晓婷. 城区婴幼儿龋齿致病原因分析[J]. 医学研究杂志,2013,42(9):81-83
- 2 上官索奕,郭向晖,柳静,等. 12 岁人群恒牙龋病抽样调查分析研究[J]. 医学研究杂志,2012,41(5):121-123
- 3 毕庆伟,赵雯雯,尹翰文,等. 黑龙江省 18 岁中学生口腔健康状况调查分析[J]. 医学研究杂志,2014,43(6):66-69
- 4 Takatsuka T, Tanaka K, Iijima Y. Inhibition of dentine demineralization by zinc oxide: in vitro and in situ studies [J]. Dent Mater, 2005, 21(12): 1170-1177
- 5 Churchley D, Newby CS, Lynch RJM, et al. Protection against enamel demineralization using sodium fluoride toothpastes containing zinc chloride[J]. Int Dent J, 2011, 16: 55-59
- 6 Lynch RJ, Churchley D, Butler A, et al. Effect of zinc and fluoride on the remineralization of artificial carious lesions under simulated plaque fluid conditions [J]. Caries Res, 2011, 45(3): 313-322
- 7 刘振华,王锋,宫艳红. 硅和氟对人恒前磨牙釉质脱矿影响的体外研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志,2012, 22(3): 154-156
- 8 黎淑芳,黎为能,邓敏,等. 茶水提液对早期牙釉质龋再矿化作用的研究[J]. 右江民族医学院学报, 2014, 36(3): 331-332
- 9 Sreenivasan PK, Furgang D, Markowitz K, et al. Clinical anti-microbial efficacy of a new zinc citrate dentifrice [J]. Clin Oral Investig, 2009, 13(2): 195-202
- 10 Osorio R, Yamauti M, Osorio E, et al. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants [J]. J Dent, 2011, 39(2): 148-153
- 11 Silverstone LM, Wefel JS, Zimmerman BF, et al. Remineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro. Effect of calcium concentration of the calcifying fluid[J]. Caries Res, 1981, 15(2): 138-157
- 12 Matsunaga T, Ishizaki H, Tanabe S, et al. Synchrotron radiation microbeam X-ray fluorescence analysis of zinc concentration in remineralized enamel in situ[J]. Arch Oral Biol, 2009, 54(5): 420-423
- 13 谷海晶,刘丽敏,凌均荣. 含锌、氟离子矿化液对牙釉质理化性能的影响[J]. 中山大学学报:医学科学版,2014,35(6):860-865
- 14 杨旸,唐子圣. 锌与龋病关系的研究进展[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志,2012,22(9):543-546

(收稿日期:2015-01-19)

(修回日期:2015-02-03)

关于审稿专家及作者提供银行卡号的启事

由于本单位财务规定,今后发放审稿费和稿费要通过银行转帐,希望审稿专家和作者及时登陆《医学研究杂志》网页(www.yxyjzz.cn),通过专家审稿或者作者投稿版块登录,于个人信息设置中进入修改个人信息版块,在个人介绍中填写银行卡号、开户支行名称及卡主姓名,以便及时为您发放审稿费和稿费,或将上述信息发到本杂志邮箱 yxyjzz@imicams.ac.cn。如未进行银行卡号登记则无法发放审稿费和稿费。联系电话:010-52328678(尹老师)。

《医学研究杂志》编辑部